

PREVALENSI DAN IDENTIFIKASI *Leptospira* PATOGENIK PADA TIKUS KOMENSAL DI KOTA MAUMERE, FLORES

Arief Mulyono✉, Ristiyanto, Esti Rahardianingtyas, Dimas Bagus Wicaksono Putro,
Arum Sih Joharina

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga

Jl. Hasanudin No.123 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia

Email: arief_m@litbang.depkes.go.id

PREVALENCE AND IDENTIFICATION OF PATHOGENIC *Leptospira* IN COMMENSAL RODENT FROM MAUMERE FLORES ORIGIN

Naskah masuk : 22 Desember 2015 Revisi I: 29 Februari 2016 Revisi II : 30 April 2016 Naskah diterima : 17 Mei 2016

Abstrak

Tikus komensal adalah sumber utama penular leptospirosis ke manusia. Status leptospirosis pada tikus komensal di Indonesia sudah cukup banyak, namun masih perlu dilengkapi. Penelitian ini bertujuan untuk menghitung prevalensi dan mengidentifikasi spesies *Leptospira* patogenik pada tikus komensal di Kota Maumere Flores. Penelitian dilakukan pada Bulan Agustus – November 2014. Penangkapan tikus dilakukan di daerah perimeter dan buffer Pelabuhan El Sai dan Wuring, Kota Maumere Flores. Deteksi *Leptospira* pada tikus komensal dengan teknik PCR menggunakan primer spesifik untuk gen 16S rRNA. Penentuan spesies *Leptospira* dengan membandingkan sekuen hasil penelitian dengan sekuen asal GenBank menggunakan program BLAST. Pohon filogeni disusun dengan Mega 6.2 software. Hasil penelitian menunjukkan tikus komensal yang tertangkap 125 ekor; terdiri dua spesies yaitu *Rattus norvegicus* dan *Rattus tanezumi*. Prevalensi *Leptospira* patogenik pada tikus komensal di kota Maumere sebesar 4 persen. Hasil analisis BLAST semua sekuen *Leptospira* asal Maumere adalah *Leptospira interrogans*. Analisis filogenetik, sekuen asal Maumere mengelompok dengan *L. interrogans*. Berdasarkan hasil penelitian penularan leptospirosis pada manusia berpotensi terjadi di Kota Maumere dan leptospirosis berpotensi menyebar ke daerah lain.

Kata kunci: *Leptospira*, leptospirosis, tikus, Maumere

Abstract

Commensal rat have been report as main source of leptospirosis to humans. Status leptospirosis in commensal rats in Indonesia has been quite a lot, but it still needs to be completed. The aim of this study was to determine the prevalence and identified pathogenic *Leptospira* in commensal rats in Maumere, Flores. The study was conducted from August to November 2014. Rats trapped in the perimeter and buffer area El Sai and Wuring Port, Maumere, Flores. PCR with specific primers 16S rRNA genewas applied to detect *Leptospira* in commensal rats. Determination of *Leptospira* species was done by comparing with the sequence at GenBank using the BLAST program. Phylogeny tree arranged with Mega 6.2 software. The results showed that 125 commensal rat was trapped, consisted of two species, namely *Rattus norvegicus* and *Rattus tanezumi*. The prevalence of *Leptospira* in commensal rats in Maumere were 4 percent. BLAST analysis of the results of all sequences of *Leptospira* confirmed with *Leptospira interrogans*. Phylogenetic analysis, sequences clustered with *L. interrogans* Maumere. Based on this research, transmission of leptospirosis in humans potentially occur in Maumere and has spread to other areas.

Keywords: *Leptospira*, leptospirosis, rat, Maumere

PENDAHULUAN

Kasus leptospirosis di Indonesia dalam rentang waktu 2004 – 2010 cenderung mengalami peningkatan baik dari jumlah kasus maupun kematian. Insiden tertinggi terjadi pada tahun 2007 (Departemen Kesehatan RI, 2009). Angka kematian leptospirosis di Indonesia mencapai 2,5 - 16,5 persen pertahun. Jika ditinjau dari segi usia, umur di atas 50 tahun merupakan angka kematian tertinggi penderita leptospirosis yaitu sebesar 56 persen. Di Indonesia, leptospirosis tersebar antara lain di Provinsi Jawa Barat, Jawa Tengah, Daerah Istimewa Yogyakarta, Lampung, Sumatera Selatan, Bengkulu, Kepulauan Riau, Sumatera Barat, Sumatera Utara, Bali, NTB, Sulawesi Selatan, Sulawesi Utara, Kalimantan Timur, Kalimantan Barat, DKI Jakarta, Jawa Timur, Banten (Widarso & Wilfried, 2002; Kementerian Kesehatan RI, 2015). Dibandingkan dengan tahun 2013, jumlah kumulatif kasus leptospirosis pada tahun 2014 menunjukkan penurunan, namun angka fatalitas kasusnya mengalami kenaikan dari 9,37 persen menjadi 14,25 persen (Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Penyebab leptospirosis adalah bakteri dari genus *Leptospira* yang mencakup 9 spesies patogen (*Leptospira interrogans*, *L. kirschneri*, *L. kmetyi*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. alexanderi*, and *L. alstoni*) (Levett et al., 2006) dan 5 spesies antara (*L. inadai*, *L. broomii*, *L. fainei*, *L. wolffii*, and *L. licerasiae*) (Bourhy et al., 2011). Banyak spesies mamalia berperan sebagai reservoir leptospirosis akan tetapi tikus merupakan reservoir utama (Athanazio et al., 2008; Meerburg et al., 2009; Desvars et al., 2012). Ada tiga jenis tikus komensal yang tersebar luas di dunia dan berhubungan dengan penularan leptospirosis yaitu *Rattus norvegicus*, *Mus musculus* dan *Rattus tanezumi* (Wang & He, 2013; Loan et al., 2015). Di dalam tubulus ginjal tikus, *Leptospira* akan menetap sebagai infeksi kronik dan dapat bertahan selama tikus tersebut hidup tanpa menyebabkan sakit. *Leptospira* akan dikeluarkan melalui urin dan mencemari lingkungan. Lingkungan yang terkontaminasi oleh urin tikus yang terinfeksi *Leptospira* merupakan titik sentral epidemiologi leptospirosis.

Data tentang prevalensi *Leptospira* pada reservoir, jenis reservoir, dan spesies *Leptospira* sangat diperlukan untuk pemahaman epidemiologi leptospirosis di suatu daerah (Romero et al., 2009), namun tidak semua daerah di Indonesia mempunyai data tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menghitung prevalensi dan mengidentifikasi jenis *Leptospira* pada tikus komensal di Kota Maumere, Flores. Kota Maumere adalah ibu kota Kabupaten Sikka Provinsi Nusa Tenggara Timur yang

memiliki beberapa pelabuhan barang dan penumpang paling ramai di Pulau Flores. Fungsi pelabuhan tidak hanya sebagai pintu masuk barang dan orang akan tetapi juga sebagai pintu masuk tikus dari berbagai daerah dan negara. Diharapkan hasil penelitian dapat digunakan sebagai dasar untuk pengendalian, kewaspadaan dini terhadap terjadinya wabah (*outbreak*) leptospirosis di Kota Maumere serta pencegahan penyebaran leptospirosis ke daerah lain terkait dengan penyebaran tikus sebagai reservoir leptospirosis melalui transportasi laut.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus sampai November 2014 pada saat musim kemarau. Penangkapan tikus di daerah perimeter dan buffer Pelabuhan El Say dan Wuring, Maumere, Flores NTT. Daerah perimeter adalah daerah dalam pagar pelabuhan yang diperuntukan untuk kapal bersandar, lokasi gudang, tempat bongkar muat barang, kantor-kantor pemerintah dan swasta. Daerah buffer yaitu lingkungan luar pagar pelabuhan tempat permukiman penduduk dengan radius 400 m dari batas perimeter.

Cara Penangkapan Tikus

Penangkapan tikus dilakukan dengan menggunakan 100 perangkap tikus (*live trap*) selama 2 hari berturut-turut di daerah buffer dan perimeter Pelabuhan El-Say dan Wuring. Penangkapan tikus dilakukan dengan memasang perangkap pada sore hari mulai pukul 16.00 waktu setempat dan diambil keesokan harinya antara pukul 06.00 – 09.00 waktu setempat. Penangkapan di dalam rumah menggunakan 2 buah perangkap dengan diletakkan di dapur atau kamar, atau tempat yang diperkirakan sering dikunjungi tikus. Jumlah rumah yang dipasang perangkap sebanyak 25 rumah. Penangkapan tikus di luar rumah/kebun menggunakan 50 perangkap. Tiap area seluas lebih kurang 10 m² dipasang 1 perangkap. Umpan yang digunakan adalah kelapa bakar. Setiap pindah lokasi, umpan diganti dengan yang baru. Tikus yang tertangkap dimasukkan ke dalam kantong kain dan dibawa ke laboratorium lapangan.

Identifikasi Tikus dan Pengambilan Ginjal

Tikus diidentifikasi dengan melihat karakteristik morfologi. Setelah diidentifikasi tikus dibedah dan diambil ginjalnya. Ginjal dimasukkan dalam botol berisi alkohol 70% sebelum dilakukan pemeriksaan secara biologi molekuler.

Ekstraksi DNA dan PCR

DNA diekstraksi dengan reagen Promega Wizard Kit. Ginjal tikus dipotong 10 – 20 mg di masukkan dalam tube 1,5 ml. Ditambahkan 180 ul digestion K dan 20 ul protein kinase K, digrinding hingga homogen. Sampel di inkubasi 55°C selama 3 jam. Dilakukan sentrifuge *full speed* selama 3 menit. Supernatan diambil dan dipindahkan ke tube 1,5 ml baru. Ditambahkan 20 ul RNase solution ke dalam sampel, kemudian di vortex selama 10 detik. Sampel diinkubasi selama 2 menit pada room temperature. Ditambahkan 200 ul *lysis/binding buffer* ke dalam sampel, kemudian di vortex selama 10 detik. Ditambahkan 200 ul ethanol 96% ke dalam sampel, kemudian di vortex selama 10 detik. *Lysate* dipindahkan maksimal 640 ul ke dalam *minicoloumn*. Sampel di sentrifuge 10.000 G selama 1 menit. *Collection tube* dibuang kemudian diganti dengan *collection tube* yang baru. Ditambahkan 500 ul *wash buffer* I kedalam *minicoloumn*. Sampel di sentrifuge 10.000 G selama 1 menit. *Collection tube* dibuang dan diganti dengan *collection tube* baru. Ditambahkan 500ul *wash buffer* II ke *minicoloumn*. Sampel di sentrifuge 17.000G selama 3 menit. Cairan pada *collection tube* dibuang, kemudian *minicoloumn* ditempatkan pada *collection tube* yang baru. Sentrifuge *collection tube* dalam keadaan kosong,

fullspeed selama 1 menit. *Minicoloumn* dipindahkan ke tube 1,5 ml baru. Ditambahkan 100ul *elution buffer* ke *minicoloumn* kemudian inkubasi selama 1 menit. Sampel di sentrifuge 17.000 G selama 1 menit. DNA disimpan pada suhu -20°C. Deteksi *Leptospira* pada jaringan ginjal dengan teknik PCR menggunakan primer spesifik untuk gen 16S rRNA. Susunan primer yang digunakan adalah (F) GCATCGAGAGGAATTAACATCA dan (R) CATGCAAGTCAAGCGGAGTA

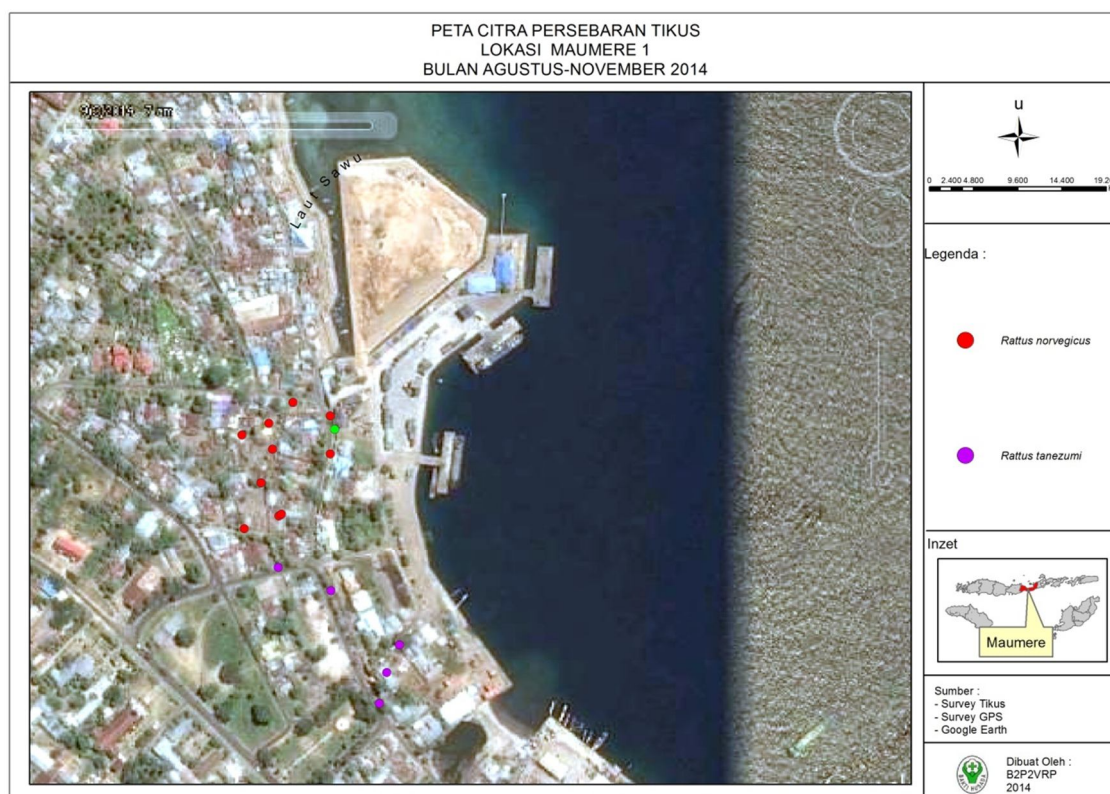
Analisis

Hasil uji PCR positif dilanjutkan dengan sekuen-sing untuk melihat urutan susunan asam basanya. Penentuan spesies *Leptospira* dengan membandingkan sekuen hasil penelitian dengan sekuen asal GenBank menggunakan program BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Pohon filogeni disusun dengan Mega 6.2 *software*.

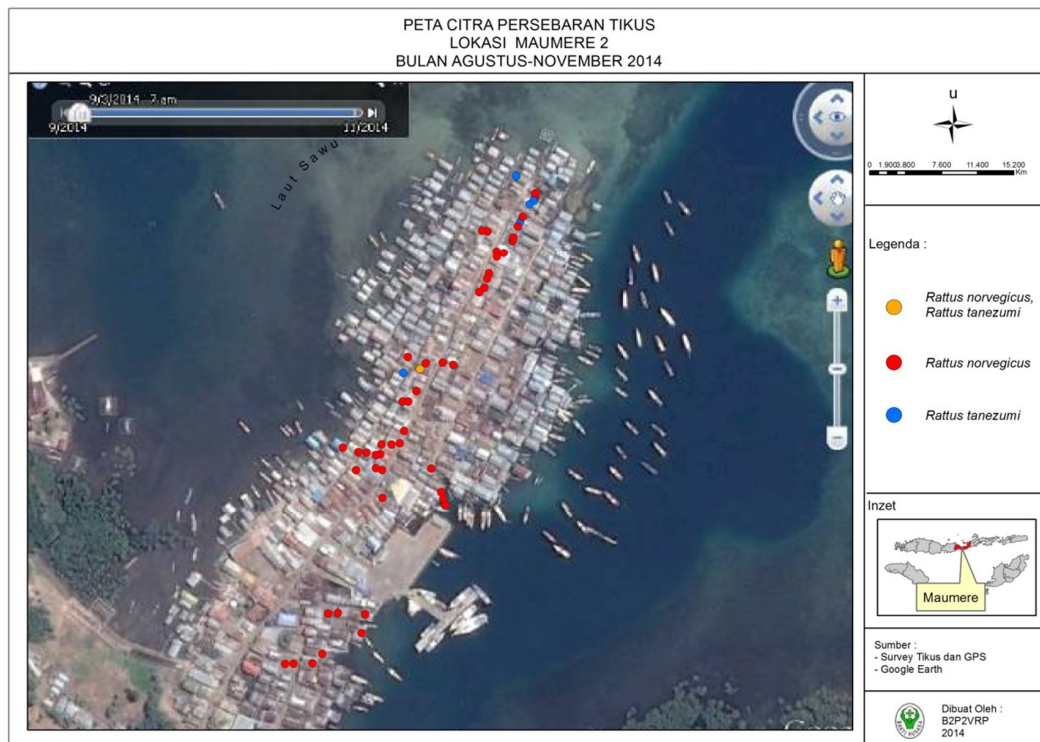
HASIL

1. Lokasi penangkapan tikus

Lokasi survei (Pelabuhan El Say dan Pelabuhan Wuring) dan tikus tertangkap disajikan pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Lokasi penangkapan tikus di Pelabuhan El Say Maumere



Gambar 2. Lokasi penangkapan tikus di Pelabuhan Wuring Maumere

2. Tikus Tertangkap

Rata-rata keberhasilan penangkapan di kedua pelabuhan yang dijadikan tempat survei sebesar 20,83 persen ($125 / (300 \times 2 \text{ hari}) \times 100\%$) (Tabel 1). Keberhasilan penangkapan dihitung dengan membagi jumlah tikus tertangkap dibagi dengan jumlah perangkap yang dipasang dikali jumlah hari pemasangan dan dikalikan 100%.

Jumlah dan jenis tikus tertangkap di Pelabuhan Wuring lebih banyak bila dibandingkan dengan Pelabuhan El Say. Di Pelabuhan Wuring ditemukan *R. norve-*

gicus dan *R. tanezumi* dengan keberhasilan penangkapan sebesar 34,33 persen, sedangkan di Pelabuhan El Say hanya ditemukan *R. norvegicus* dengan keberhasilan penangkapan sebesar 7,33 persen (Tabel 1).

3. Pemeriksaan PCR

Hasil pemeriksaan PCR menunjukkan tikus yang positif terinfeksi *Leptospira* dari jenis *Rattus norvegicus*. Jumlah *R. norvegicus* positif berdasarkan pemeriksaan PCR sebanyak 5 ekor, 1 ekor dari Pelabuhan El Say dan 4 ekor dari Pelabuhan Wuring (Tabel 2).

Tabel 1. Tikus Komensal Tertangkap dan Keberhasilan Penangkapan

Lokasi	Jenis	Jenis Kelamin		Jumlah	Keberhasilan penangkapan (%)
		Jantan	Betina		
Pelabuhan El Say	<i>Rattus norvegicus</i>	8	14	22	7,33
	<i>Rattus tanezumi</i>	0	0	0	
Pelabuhan Wuring	<i>Rattus norvegicus</i>	38	54	92	34,33
	<i>Rattus tanezumi</i>	4	7	11	
Total				125	20,83

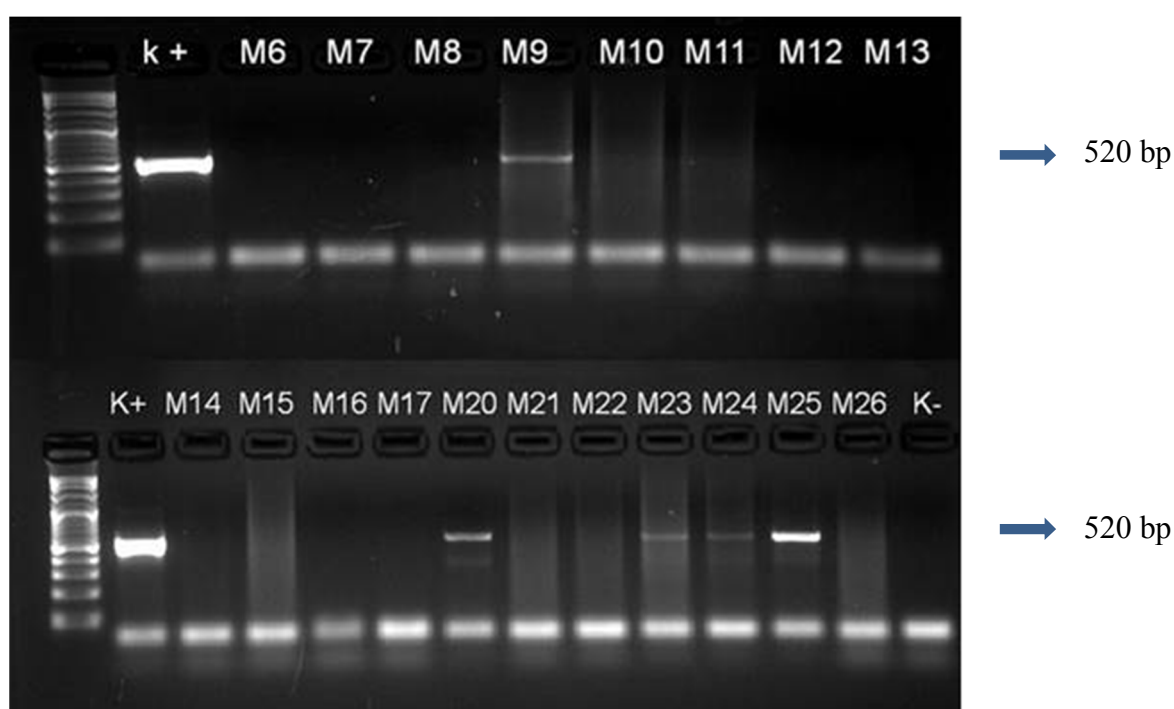
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Uji PCR

Lokasi	Jenis Tikus	Hasil Pemeriksaan PCR Jumlah positif (n/N)*	Prevalensi(%)
Pelabuhan El Say	<i>Rattus norvegicus</i>	1/22	4,5
	<i>Rattus tanezumi</i>	0/0	0
Pelabuhan Wuring	<i>Rattus norvegicus</i>	4/92	4,3
	<i>Rattus tanezumi</i>	0/11	0
		5/125	4

Ket. * = Jumlah positif/Jumlah diperiksa

Gen target hasil amplifikasi sepanjang kurang lebih 512 bp (Gambar 3).

mengelompok menjadi satu dengan *Leptospira interrogans*, masing-masing *Leptospira* mengelompok

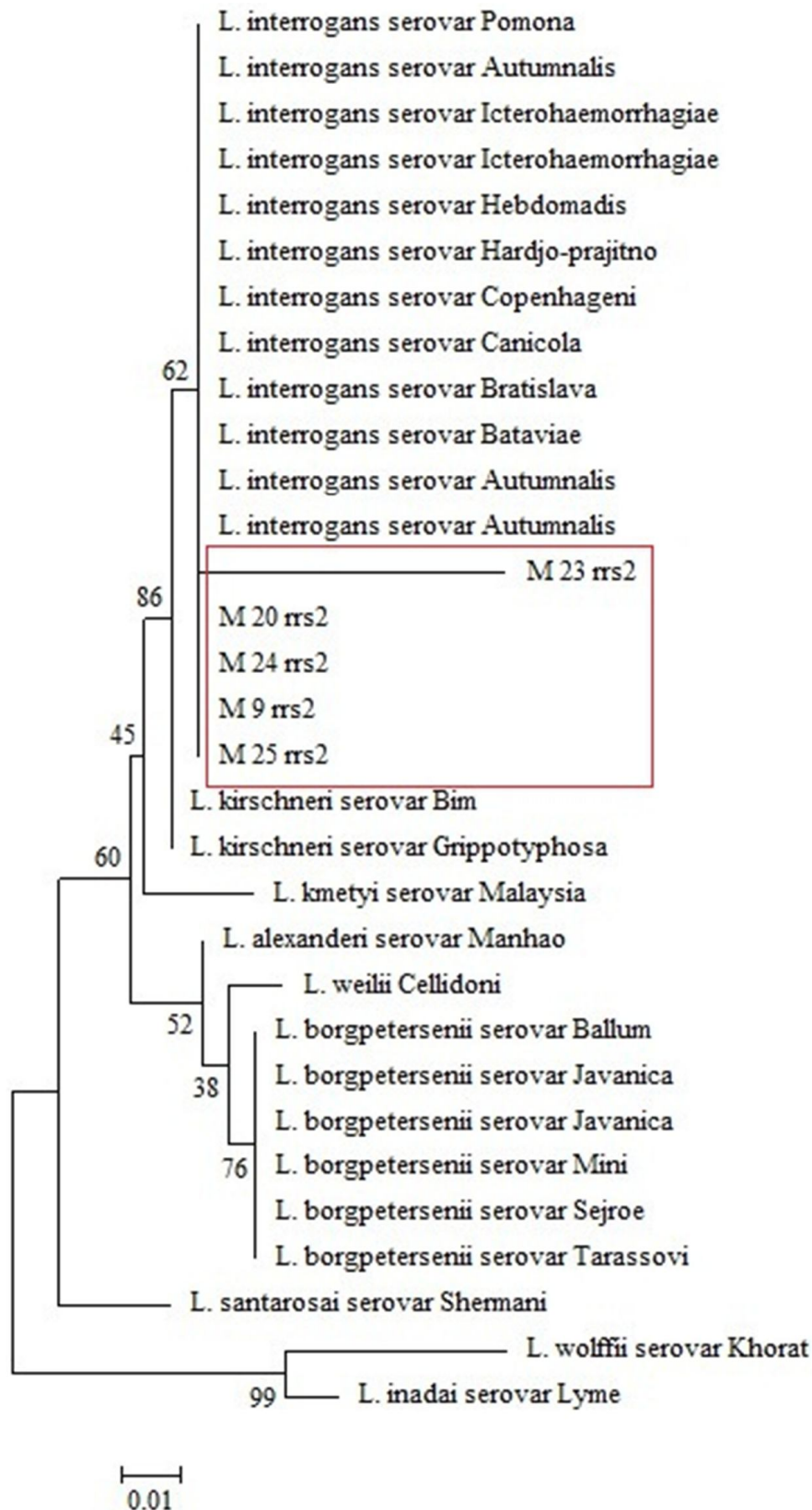


Gambar 3.Hasil elektroforesis produk PCR gen 16S rRNA. Tanda panah menunjukkan pita hasil amplifikasi gen 16S rRNA sepanjang kurang lebih 512 bp. Sampel positif M9, M20, M23, M24, M25.

4. Filogenetik

Analisis filogenetik menunjukkan bahwa semua sekuen 16S rRNA isolat *Leptospira* asal Maumere

berdasarkan spesiesnya kecuali *L. wolffii* dan *L. inadai* yang mengelompok menjadi satu (Gambar 4).



Gambar 4. Pohon filogeni sekuen 16S rRNA *Leptospira*. Pohon filogeni dikonstruksi dengan menggunakan metode *maximum likelihood* bootstrap 1000x. Isolat dari Maumere dalam kotak berwarna merah. Skala 0.01 menunjukkan jarak evolusi pada panjang cabang dan angka pada cabang menunjukkan nilai bootstrap.

PEMBAHASAN

Tikus komensal yang tertangkap di daerah penelitian adalah *Rattus norvegicus* dan *Rattus tanezumi*. Kedua spesies tikus tersebut merupakan tikus yang berhabitat di permukiman dan sudah beradaptasi dengan baik pada aktivitas kehidupan manusia. Menurut Faria et al. (2008), tikus got *R. norvegicus* dan tikus rumah *R. tanezumi* adalah reservoir utama leptospirosis di daerah perkotaan. Hasil penangkapan tikus menunjukkan di lokasi penelitian di dominasi oleh *R. norvegicus*. Dominasi *R. norvegicus* merupakan hal yang biasa terjadi di lingkungan perkotaan yang kumuh (Costa, et al., 2014). Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Ristiyanto et al. (1994) di Pelabuhan Maumere, tikus yang dominan ditemukan adalah *R. rattus* (*R. tanezumi*). Menurut Davis (1953), jika *R. norvegicus* dan *R. tanezumi* hidup berdampingan disuatu tempat maka *R. norvegicus* akan cenderung menggantikan *R. tanezumi* dikarenakan ukuran dan agresifitas *R. norvegicus* lebih besar bila dibandingkan dengan *R. tanezumi*. Menurut Ibrahim & Ristiyanto (2005), selain *R. norvegicus* dan *R. tanezumi* beberapa spesies tikus dan mencit yang umum ditemukan di kota pelabuhan di Indonesia adalah *R. exulans*, dan *Mus musculus*.

Trap success (keberhasilan penangkapan) di lokasi penelitian sebesar 20,83 persen. *Trap success* menggambarkan kepadatan populasi tikus di lokasi penangkapan. Menurut Yang et al. (2008), tidak ada standar baku untuk mengukur kepadatan populasi tikus akan tetapi penetapan populasi tikus dapat dilihat dari *trap success*. *Trap success* diatas 7 persen menunjukkan kepadatan populasi tikus di daerah penelitian tinggi. Tingginya populasi tikus merupakan faktor risiko terjadinya penularan penyakit yang dibawa oleh tikus seperti leptospirosis. Hasil penelitian Sarkar et al. (2002), menyebutkan bahwa keberadaan tikus di lingkungan rumah mempunyai risiko 4,5 kali lebih besar untuk tertular leptospirosis.

Hasil pemeriksaan PCR menunjukkan 5 ekor *R. norvegicus* positif dari 114 ekor yang diperiksa, sedangkan pada *R. tanezumi* tidak ada satupun yang positif dari 11 ekor yang diperiksa. Menurut Background (1961), prevalensi *Leptospira* pada tikus terrestrial seperti *R. norvegicus* lebih tinggi bila dibandingkan dengan tikus yang hidupnya arboreal seperti *R. tanezumi*. Habitat tikus terrestrial cenderung basah dan lembab. Di lingkungan basah dan lembab *Leptospira* akan bertahan hidup lebih lama sehingga lebih berpotensi untuk menginfeksi inang baru. Secara keseluruhan prevalensi *Leptospira* pada tikus komensal di Kota Maumere sebesar 4 persen. Besarnya prevalensi *Leptospira* pada

tikus berbeda-beda pada setiap tempat (Himsworth et al., 2013). Menurut Faria et al. (2008), dan Costa et al. (2014), prevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* di daerah perkotaan berkisar antara 7 – 82 persen, dan 7 – 34 persen pada *R. rattus* (*R. tanezumi*) (Carter & Cordes, 1980; Hathaway & Blackmore, 1981). Studi prevalensi *Leptospira* pada tikus komensal di beberapa daerah di Indonesia juga menunjukkan hasil yang beragam. Prevalensi *Leptospira* pada *R. norvegicus* berkisar antara 3,36 – 72,72 persen (Handayani & Ristiyanto, 2008; Mulyono et al., 2014) sedangkan pada *R. tanezumi* antara 2,94 – 25 persen (Handayani & Ristiyanto, 2008; Yunianto et al., 2012; Mulyono et al., 2013). Menurut Himsworth et al. (2013), faktor yang mempengaruhi besarnya prevalensi *Leptospira* pada tikus masih belum jelas.

Tingginya populasi *R. norvegicus* dan diketemukannya *R. norvegicus* positif *Leptospira* di Kota Maumere merupakan faktor resiko terjadinya penularan leptospirosis di Kota Maumere. Faria et al. (2008), menyatakan tingginya populasi dan dominasi *R. norvegicus* merupakan faktor resiko utama penularan leptospirosis di wilayah perkotaan di Brasil. Menurut Faine et al. (1999), *R. norvegicus* adalah reservoir utama leptospirosis di daerah perkotaan. Hasil penelitian Costa et al. (2015), menunjukkan tikus got, *R. norvegicus* infeksi *Leptospira* akan mengeluarkan *Leptospira* lewat urin pada permukaan tanah setiap harinya kira-kira $5 \times 10^{10}/m^2$.

Diketemukannya *R. norvegicus* positif *Leptospira* di Kota Maumere juga merupakan faktor resiko terjadinya penyebaran leptospirosis ke daerah lainnya. Penyebaran leptospirosis ke daerah di luar Maumere berkaitan dengan penyebaran *R. norvegicus* melalui transportasi laut. Menurut Departemen Kesehatan RI (2007), kemajuan teknologi bidang transportasi, perdagangan bebas maupun mobilitas penduduk antar negara mengakibatkan dampak negatif dibidang kesehatan yaitu percepatan perpindahan dan penyebaran vektor dan reservoir penyakit menular potensial wabah yang dibawa oleh alat angkut, orang maupun barang bawaan. Hal tersebut menunjukkan bahwa penyebaran vektor dan reservoir melalui alat angkut adalah suatu kenyataan yang tidak dapat dipungkiri.

Hasil analisis BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) yang dilakukan terhadap setiap sekuen 16S rRNA *Leptospira* dari *R. norvegicus* asal Maumere dan penjejakan dengan sekuen *Leptospira* dari GenBank menunjukkan semua sekuen identik dengan *L. interrogans*. Hasil analisis filogenetik juga menunjukkan isolat *Leptospira* dari *R. norvegicus* asal Maumere mengelompok jadi satu dengan *L. interrogans*. Hasil ini

sesuai dengan penelitian (Adler & de la Peña Moctezuma, 2010), yang menyatakan *R. norvegicus* adalah inang alamiah dari *L. interrogans*. Menurut Faria et al. (2008), *L. interrogans* dan *L. borgpetersenii* adalah dua spesies *Leptospira* yang umum ditemukan pada hewan pengerat dan berhubungan dengan penularan leptospirosis pada manusia. Kedua jenis *Leptospira* tersebut dilaporkan banyak menginfeksi dan menimbulkan penyakit pada manusia di Asia (Gouy et al., 2010; Benacer et al., 2013).

Diantara *Leptospira* patogenik lainnya *L. interrogans* adalah salah satu spesies *Leptospira* yang dominan ditemukan di sebagian besar kasus infeksi leptospirosis bila dibandingkan dengan spesies *Leptospira* patogen lainnya seperti *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. kirschneri* dan *L. alexanderi* (Levett et al., 2006). Cerqueira et al. (2010), menyatakan bahwa *L. interrogans* berhubungan dengan kasus leptospirosis berat pada manusia yang ditandai dengan seluruh tubuh berwarna kuning seperti sakit hepatitis, kelainan ginjal, perdarahan di paru, kadang miokarditis, dan tidak jarang perdarahan di otak. Bakteri *L. interrogans* juga dilaporkan menjadi penyebab outbreak leptospirosis di Brazil (Pereira et al., 2000), India (Roy et al., 2005) dan Thailand (Thaipadungpanit et al., 2007).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Prevalensi leptospira patogenik pada tikus komensal di kota Maumere sebesar 4 persen dan jenis *Leptospira* patogenik yang ditemukan adalah *L. interrogans*. Berdasarkan hasil ini penularan leptospirosis pada manusia berpotensi terjadi di Kota Maumere, selain itu leptospirosis berpotensi menyebar ke daerah lain.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang identifikasi serovar *Leptospira* patogenik yang bersirkulasi di Kota Maumere dan perlu dilakukan pengendalian tikus di lingkungan pelabuhan maupun di pemukiman sekitar pelabuhan untuk pencegahan penularan leptospirosis di Kota Maumere serta penyebaran leptospirosis ke daerah lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Kepala Badan Litbangkes Kemenkes RI, Kepala B2P2VRP Salatiga, atas terlaksananya penelitian ini. Ucapan terimakasih juga kami sampaikan kepada Kepala Dinas

Kesehatan Kabupaten Sikka beserta jajarannya, Kepala KKP Wilayah Kerja Maumere beserta jajarannya yang telah memberikan ijin dan bantuan selama pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adler B & de la Peña Moctezuma A, 2010. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary microbiology*, 140(3-4), pp.287-96.
- Athanazio D a., Silva EF, Santos CS, Rocha GM, Vannier-Santos M a., McBride AJ a, et al., 2008. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. *Acta Tropica*, 105(2), pp.176-180.
- Background Z, 1961. Animal leptospirosis in Malaya. *WHO chronicle*, 15, pp.343-5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14447368>.
- Benacer D, Zain SNM, Amran F, Galloway RL & Thong KL, 2013. Isolation and molecular characterization of *Leptospira interrogans* and *Leptospira borgpetersenii* Isolates from the urban rat populations of Kuala Lumpur, Malaysia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(4), pp.704-709.
- Bourhy P, Bremont S, Zinini F, Giry C & Picardeau M, 2011. Comparison of real-time PCR assays for detection of pathogenic *Leptospira* spp. in blood and identification of variations in target sequences. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(6), pp.2154-2160.
- Carter M & Cordes D, 1980. No Title. *Leptospirosis and other infections of Rattus rattus and Rattus norvegicus*, 28(3), pp.45 - 50.
- Cerqueira GM, McBride AJ a, Queiroz A, Pinto LS, Silva EF, Hartskeerl R a., et al., 2010. Monitoring *Leptospira* strain collections: The need for quality control. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(1), pp.83-87.
- Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al., 2015. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(9), pp.0-1.
- Costa F, Porter FH, Rodrigues G, Farias H, de Faria MT, Wunder E a, et al., 2014. Infections by *Leptospira interrogans*, Seoul virus, and Bartonella spp. among Norway rats (*Rattus norvegicus*) from the urban slum environment in Brazil. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 14(1), pp.33-40.
- Costa F, Ribeiro GS, Felzemburgh RDM, Santos N, Reis RB, Santos AC, et al., 2014. Influence

- of Household Rat Infestation on *Leptospira* Transmission in the Urban Slum Environment. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(12).
- Davis DE, 1953. The characteristics of rat populations. *Q Rev Biol*, 28(4), pp.373 – 401.
- Departemen Kesehatan RI, 2007. *Pedoman Teknis Pengendalian Risiko Lingkungan di Pelabuhan/ Bandara/Pos Lintas Batas*, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2009. *Profil Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Tahun 2008*, Jakarta.
- Desvars A, Naze F, Vourc'h G, Cardinale E, Picardeau M, Michault A, et al., 2012. Similarities in *Leptospira* serogroup and species distribution in animals and humans in the Indian ocean island of Mayotte. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 87(1), pp.134–140.
- Faine S, Adler B, Bolin C & Perolat P, 1999. *Leptospira and Leptospirosis*, Melbourne: MediSci.
- Faria MT de, Calderwood MS, Athanazio DA, A. AJ, McBride, Hartskeerl RA, et al., 2008. Carriage of *Leptospira interrogans* among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. *Acta Trop*, 108(1), pp.1 – 5.
- Gouy M, Guindon S & Gascuel O, 2010. SeaView version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular biology and evolution*, 27(2), pp.221–4.
- Handayani FD & Ristiyanto, 2008. Distribusi dan faktor resiko lingkungan penularan leptospirosis di Kabupaten Demak, Jawa Tengah. *Media Litbang Kesehatan*, XVIII(4), pp.193 –201.
- Hathaway S & Blackmore D, 1981. No Title. *Ecological Aspects of the Epidemiology of Infection with Leptospire of the Ballum Serogroup in the Black Rat (Rattus rattus) and the Brown Rat (Rattus norvegicus) in New-Zealand*, 87(3), pp.309 – 319.
- Himsworth CG, Bidulka J, Parsons KL, Feng AYT, Tang P, Jardine CM, et al., 2013. Ecology of *Leptospira interrogans* in Norway Rats (*Rattus norvegicus*) in an Inner-City Neighborhood of Vancouver, Canada. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(6).
- Ibrahim IN & Ristiyanto, 2005. Penyakit bersumber rodensia (tikus dan mencit di Indonesia). *Jurnal Ekologi Kesehatan*, 4(3), pp.309 – 319.
- Kementerian Kesehatan RI, 2015. *Pengendalian Penyakit Dan Penyehatan Lingkungan*,
- Levett PN, Morey RE, Galloway RL & Steigerwalt AG, 2006. *Leptospira broomii* sp. nov., isolated from humans with leptospirosis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(3), pp.671–673.
- Loan HK, Van Cuong N, Takhampunya R, Kiet BT, Campbell J, Them LN, et al., 2015. How important are rats as vectors of leptospirosis in the mekong delta of Vietnam? *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 15(1), pp.56–64.
- Meerburg BG, Singleton GR & Kijlstra A, 2009. *Rodent-borne diseases and their risks for public health.*,
- Mulyono A, Handayani FD & Handayani NS, 2013. Histopatologi hepar tikus rumah (*Rattus tanezum*) infeksi patogenik *Leptospira* spp. *Vektora*, 5(1), pp.7 – 11.
- Mulyono A, Ristiyanto, Farida DH & Noor SH, 2014. Gambaran Histopatologi Ginjal *Rattus norvegicus* Infektif *Leptospira*. *Jurnal Vektora*, 6(2), pp.69–72.
- Pereira MM, Matsuo MGS, Bauab a. R, Vasconcelos S a., Moraes ZM, Baranton G, et al., 2000. A clonal subpopulation of *Leptospira interrogans sensu stricto* is the major cause of leptospirosis outbreaks in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(1), pp.450–452.
- Ristiyanto, Hadi T & Man H, 1994. Survei tikus dan ektoparasit serta peranannya dalam penularan penyakit virus Hantaan di Pelabuhan Maumere, Flores. *Maj. Parasito. Ind.*, 7(2), pp.45 – 52.
- Romero EC, Blanco RM & Galloway RL, 2009. Application of pulsed-field gel electrophoresis for the discrimination of leptospiral isolates in Brazil. *Letters in Applied Microbiology*, 48(5), pp.623–627.
- Roy S, Biswas D, Vijayachari P, Sugunan a. P & Sehgal SC, 2005. A clone of *Leptospira interrogans sensu stricto* is the major cause of leptospirosis in the archipelago of Andaman and Nicobar Islands, India. *Letters in Applied Microbiology*, 41(2), pp.179–185.
- Sarkar U, Nascimento S, Barbosa R, For MC-CI of RF, Leptospirosis During an Urban Epidemics R, Nuevo H, et al., 2002. Population-based case-control investigation of risk factors for leptospirosis during an urban epidemic. *American Journal Tropical Medicine and Hygiene*, 66(5), pp.605–10.
- Thaipadungpanit J, Wuthiekanun V, Chierakul W, Smythe LD, Petkanchanapong W, Limpaboon R, et al., 2007. A dominant clone of *Leptospira interrogans* associated with an outbreak of human leptospirosis in Thailand. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 1(1), pp.1–6.

- Wang C & He H, 2013. *Leptospira* spp. In Commensal Rodents, Beijing, China. *Jwd*, 49(2), pp.461–463. Available at: <http://www.bioone.org/doi/10.7589/2012-10-261>.
- Widarso HS & Wilfried P, 2002. Kebijakan Departemen Kesehatan Dalam Penanggulangan Leptospirosis di Indonesia. In *Kumpulan Makalah Simposium Leptospirosis, Semarang, 3 Agustus 2002*. Semarang.
- Yang P, Oshiro S & Warashina W, 2008. Fleas Occurring on Mice During the Mouse Population Explosion in the Western Side of Leeward Oahu, Hawaii. *Proc Hawaiian Entomol Soc*, 40(September 2006), pp.77–80.
- Yunianto B, Ramadhani T, Ikawati B, Wijayanti T & Jarohman, 2012. No Title. *Jurnal Ekologi Kesehatan*, 11(1), pp.40 – 51.